Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Über die Einwirkung fluoreszierender Farbstoffe auf die Keimung der Samen

Von

Dr. Angela Piskernik

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität in Wien.
Nr. 160 der zweiten Folge

(Mit 1 Tafel)

(Vorgelegt in der Sitzung am 14. Juli 1921)

I. Einleitung.

Im Laufe der letzten Dezennien wurde von Seite der experimentellen Physiologie und Biologie den fluoreszierenden Stoffen große Aufmerksamkeit zugewendet, die durch überraschende Ergebnisse noch wesentlich gesteigert wurde. Die Versuchsobjekte (Stoffe, Organismen und Organismen-, beziehungsweise Gewebsteile) wurden sowohl dem Pflanzen- wie dem Tierreiche entnommen und zeigten unter Einwirkung belichteter fluoreszierender Substanzen Erscheinungen, die bei unbelichteten nie oder nach merklich längeren Zeiträumen minimal zutage traten. Änderung der Bewegungsrichtung, chemische Veränderung und Formveränderung sind die Folgen der photodynamischen Wirkung, ferner Desorganisationserscheinungen im Plasma, welche sich bei fortgesetzter Einwirkung bis zum Absterben der Organismen oder deren Teile steigern.

Den ersten grundlegenden Anstoß zur Ausgestaltung der Frage über die Wirkung belichteter fluoreszierender Stoffe gaben Tappeiner und seine Schüler, welche diese Wirkung als »photodynamische« bezeichneten. Alles, was bis zum Jahre 1909 an Material für den Einfluß fluoreszierender Substanzen geliefert wurde, hat Tappeiner in seiner Abhandlung »Die photodynamische Erscheinung (Sensibilisierung durch fluoreszierende Farbstoffe). Asher und Spiro. Ergeb. der Physiologie, VIII. Jahrg. 1909« berücksichtigt und es erübrigt mir daher nur, die von diesem Jahre an veröffentlichte Literatur hervorzuheben.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Sellei[1] zeigt, daß Giftwirkung, hervorgerufen durch injizierte gewöhnliche Gifte, wie Sublimat, Eisen-, Gold- und Platinchlorid usw., durch Beifügen von fluoreszierenden Farbstoffen bei Tieren wesentlich beschleunigt wird. Die eingehenden neueren Studien photodynamischer Stoffwirkung von W. Hausmann[2] an Paramaecien, Mäusen und roten Blutkörperchen brachten einen tiefen Einblick in das Sensibilisationsvermögen fluoreszierender Substanzen, ebenso die Untersuchungen Gicklhorn's,[3] welcher die photodynamischen Erscheinungen vornehmlich an pflanzlichen Objekten studierte. Seine Versuche mit kryptogamen Pflanzen und phanerogamen Pflanzenteilen zeigten übereinstimmende Resultate mit jenen, welche Tierphysiologen und -biologen an ihren tierischen Objekten erzielten: reichliche Vakuolenbildung, Kontraktion des Plasmas, starke Farbstoffspeicherung im vorher farblosen Plasma und deutliche Tinktion des Zellkernes (l. c., p. 49). Bei *Elodea canadensis*- und *Vallisneria*-Blättern beobachtete er eine Geschwindigkeitsänderung in der Plasmaströmung, bis letztere schließlich sistiert wurde; überall aber zeigten die Gewebeteile und einzelne Zellen Funktionsstörungen und Desorganisationserscheinungen im Plasma, die in ihrer Gesamtsumme den Tod bedeuten.

Das Erscheinen von Noack's[4] Arbeit bezeichnet einen Wendepunkt in der Auffassung der photodynamischen Wirkung. Ausgehend vom Gedanken, daß es sich dabei um Oxydationsprozesse handelt, versucht er unter Mitwirkung von fluoreszierenden Substanzen an Atmungschromogenen Oxydationen hervorzurufen. Bei Belichtung werden diese Chromogene in Atmungsfarbstoffe umgewandelt, welche die Oxydationsstufe der Chromogene sind, woraus Noack schließt, daß die fluoreszierenden Stoffe Katalysatoren sind, welche unter Einwirkung von Licht — also Lichtkatalysatoren — sich in reversibler Weise mit Luftsauerstoff beladen und ihn an das Chromogen abgeben.

Metzner[5] macht uns bekannt mit der durch belichtete fluoreszierende Farbstoffe an Paramaecien hervorgerufenen Phobophototaxis, welche je nach der Reizstärke als positive Phobophototaxis (bei geringer Reizintensität) oder als negative Phobophototaxis (bei

---

[1] Sellei J., Die Wirkung der Farbstoffe in Verbindung mit Giften und Arzneimitteln. Bioch. Zeitschr., Bd. 49 (1913).

[2] Hausmann W., Die sensibilisierende Wirkung des Hämatoporphyrins. Bioch. Zeitschr., Bd. 30 (1910). — Zur sensibilisierenden Wirkung der natürlichen Porphyrine. Bioch. Zeitschr., Bd. 77 (1916).

[3] Gicklhorn J., Über den Einfluß photodynamisch wirksamer Farbstofflösungen auf pflanzliche Zellen und Gewebe. Diese Sitzungsber., Bd. 123 (1913).

[4] Noack Kurt, Untersuchungen über lichtkatalytische Vorgänge von physiologischer Bedeutung. Zeitschr. f. Botanik, Heft 6 (1920).

[5] Metzner P., Zur Kenntnis der photodynamischen Erscheinung: Die induzierte Phototaxis bei *Paramaecium caudatum*. Bioch. Zeitschr., 1919, 1920. — Die Bewegung und Reizbeantwortung der bipolar begeißelten Spirillen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 59 (1920).

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

starker Reizstärke) auftritt, welch letztere darin besteht, daß das Infusor seine Bewegungsrichtung umkehrt.

Wie aus der neuesten Literatur ersichtlich ist, wird das physiologische Gebiet der photodynamischen Wirkung sowohl von zoologischer als von botanischer Seite näher ausgebaut. Da bei embryonalen Geweben, wie sie uns Pflanzenkeimlinge in vollendetster Form darbieten, der Einfluß photodynamischer Stoffe besonders deutlich hervortreten dürfte, weil diese jugendlichen Organe deren Einwirkung ziemlich widerstandslos gegenüberstehen, außerdem der Effekt auf Wurzel und Stengel gleichzeitig verfolgt werden kann, lag der Gedanke nahe, auskeimende Samen als Untersuchungsobjekte zu benutzen. Die Wirkung auf Würzelchen und Sprosse, welche beide von den zartesten Gewebselementen aufgebaut sind, kann sich in einer Schädigung zeigen, welche Wachstumshemmung und Absterben zur Folge hat, oder aber in einer Förderung der Lebenstätigkeit, die sich in merklicher Wachstumsbeschleunigung kundgibt. Der Zweck dieser Arbeit war es, orientierende Untersuchungen nach dieser Richtung auszuführen und es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Hofrat Dr. Hans Molisch für die Zuweisung dieser Arbeit, das stete Interesse, welches er derselben entgegenbrachte, und die zahlreichen Anregungen an dieser Stelle meinen wärmsten Dank auszusprechen. Ebenso danke ich Herrn Assistenten Dr. G. Klein, welcher mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand, und Herrn Assistenten J. Kisser, der mir für meine Untersuchungen zahlreiches Samenmaterial bereitwilligst zur Verfügung stellte.

II. Eigene Untersuchungen.

Photodynamische Wirkung fluoreszierender Farbstoffe auf Samenkeimung.

1. Methodik.

Bei der großen Zahl fluoreszierender Farbstoffe konnten für vorliegende Untersuchungen natürlich nur einige wenige Verwendung finden, welche in bezug auf Konzentration und Versuchsmaterial verschieden variiert wurden: Eosin, Magdalarot, Safranin, Erythrosin, Rhodamin B, Diazoresorcin, Fluoresceïn und Methylenblau. Noch weitere anzuwenden stellte sich als zwecklos heraus, da bei allen diesen Stoffen die Ergebnisse im großen und ganzen derselben Art sind, von kleinen Unterschieden abgesehen, welche auf die verschiedene Intensität der Fluoreszenz oder die mehr oder minder große Eigengiftigkeit der Farbstoffe zurückzuführen sind. Neben diesen wurden zur Kontrolle auch nichtfluoreszierende Farbstoffe verwendet und zwar Anilinblau und Fuchsin. Bei der Eindeutigkeit dieser Kontrollversuch erwies sich die Anwendung noch weiterer als überflüssig.

Die Farbstoffe wurden in der Konzentration 1 : 1000 (0·1 *g* auf 100 *cm*³ Leitungswasser) in dunkelbraunen Gläsern im Dunkeln aufbewahrt und diese Stammlösung dann je nach Bedarf für jeden Versuch bis zur gewünschten Konzentration mit Leitungswasser verdünnt. Gearbeitet wurde mit den Konzentrationen 1 : 600, 1 : 800, 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 20.000, 1 : 50.000, 1 : 100.000, 1 : 1,000.000.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Die verwendeten Samen stammten durchwegs von der letzten Herbsternte, um dadurch über Material zu verfügen, das die möglichst gleichen Resultate zeigt. Zur Verwendung kamen *Vicia sativa*, *Pisum sativum*, *Lens esculenta*, *Sinapis alba*, *Zea Mays*, *Lepidium sativum*, *Triticum durum*, *Spinacia oleracea*, *Medicago sativa* sowie Samen von Kohl, Rettig und der Zuckerrübe. Um sich von dem Wert des zur Verwendung gelangenden Samenmaterials zu überzeugen, damit die Eindeutigkeit der Versuche nicht durch schlecht keimende Samen u. dgl. gestört werde, wurden die Samen der Versuchsserien auf ihre Keimkraft geprüft. Es wurden 50 oder 100 Stück, je nach der Menge des vorhandenen Materials, in Leitungswasser 24 Stunden quellen gelassen und darauf in mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleideten Keimschalen zum Keimen gebracht. Auf diese Weise kann man sich leicht ein genaues Bild von der Beschaffenheit und Güte der Samen verschaffen.

Die zu untersuchenden Samen wurden in der Lösung des fluoreszierenden Farbstoffes zur Quellung gebracht. Die Imbibition dauerte, um Schäden, hervorgerufen durch intramolekulare Atmung, zu vermeiden, in keinem Falle länger als 24 Stunden, wohl aber fast immer annähernd 24 Stunden, damit eine möglichst große Menge der Lösung von den zu quellenden Samen aufgenommen und gespeichert wurde. Die mit den Farbstofflösungen beschickten Vogelschalen, in welchen sich die Samen befanden, wurden durch die 24 Stunden hindurch in einen dunklen Kasten gestellt, um jede Einwirkung der fluoreszierenden Farbstoffe vor dem Auslegen der Samen zur Keimung zu verhindern. Nach der 24stündigen Quellung wurden die Samen rasch acht- bis zehnmal unter der Wasserleitung abgewaschen und abgepinselt, um den den gefärbten Samen von außen anhaftenden Farbstoff möglichst gründlich zu entfernen; derselben Prozedur wurden auch die Kontrollsamen, die in reinem Wasser der Quellung unterworfen waren, aus dem Grunde unterzogen, daß auch sie dem Einflusse des kalten Leitungswassers ausgesetzt waren, somit um auch hier dieselbe Versuchsbedingung zu schaffen.

Dem Auslegen der Samen ist die größte Aufmerksamkeit und Sorgfalt zuzuwenden. Es handelt sich einerseits darum, für die dem Lichte ausgesetzten Kontroll- und Versuchssamen gleiche Feuchtigkeitsverhältnisse herzustellen und andrerseits möglichst gleiche Temperatur- und Feuchtigkeitsgrade für Licht- und Dunkelversuche zu schaffen. Um die Feuchtigkeitschwankungen zwischen den dem Lichte ausgesetzten und den im Dunkeln gehaltenen Samen auszuschalten und die Temperaturunterschiede auf ein Minimum herabzudrücken, wurden die Versuchsanstellungen mannigfach modifiziert. Folgende zwei Arten wurden hauptsächlich durchgeführt:

a) Die Samen wurden in Petrischalen ausgelegt, die mit einer Doppellage von Filtrierpapier ausgekleidet waren. Sowohl die Licht- als die zur Kontrolle aufgestellten Dunkelversuche stellte ich auf das Fenster eines gegen Süden gelegenen Korridors, wobei die Wärmestrahlen von allen Petrischalen nach Möglichkeit abgehalten wurden. Diejenigen der Lichtversuche standen hinter Küvetten, die zum Zwecke der Absorption der Wärmestrahlen mit Wasser gefüllt waren, und unter großen Vogelschalen, die demselben Zwecke dienten. Jene der Dunkelversuche wurden unter Blechzylinder gebracht, welche mit weißem Papier umhüllt ebenfalls hinter große Küvetten gestellt wurden. Die Temperaturdifferenzen waren auf diese Weise minimal. Um in den einzelnen Petrischalen, von denen jede Versuchsserie acht bis zehn umfaßt (vier oder fünf licht und ebensoviele dunkel), denselben Feuchtigkeitsgrad zu erzielen, wurde nach je ein oder zwei Tagen, wie eben die Versuchskontrolle vorgenommen wurde, das Filtrierpapier sämtlicher Schalen mit Wasser vollkommen durchfeuchtet; ein eventueller Überschuß an Wasser wurde sorgfältigst entfernt.

b) Noch einwandfreier sind die Versuche, bei welchen Licht- und Dunkelexemplare derselben Lösungskonzentration (z. B. Eosin 1 : 1000 licht und Eosin 1 : 1000 dunkel) in ein- und derselben Petrischale untergebracht waren. Zu diesem Zwecke wurde sowohl der untere Teil der Petrischale als auch der Deckel von außen zur Hälfte mit schwarzem Papier verklebt, während im Innern der Schale die Scheidewand zwischen der Licht- und Dunkelhälfte der Schale ein nach oben offener Doppelstreifen von schwarzem Filtrierpapier, welcher die innere Höhe der Petrischale hatte, bildete. Schon auf diese Weise wurde das Licht beim Schließen

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

der Schale hinreichend ausgeschaltet, doch um jeden Lichtstrahl abzuhalten, wurde über die Dunkelhälfte auch von innen ein halbkreisförmig geschnittenes schwarzes Filtrierpapier gelegt, das mit seinem geraden Ende in das nach oben offene Mittelstück umgebogen wurde. Bei dieser Art der Versuchsanstellung fielen die Feuchtigkeitsunterschiede weg und die Temperaturdifferenzen zwischen Licht und Dunkel überstiegen, weil ja auch Küvetten vorgestellt wurden, wohl kaum einen halben bis einen Grad.

Die Versuche wurden öfters kontrolliert und zwar in bezug auf den Grad und die Schnelligkeit des Auskeimens, die Wurzel- und Stengellänge, die Ausbildung oder Nichtausbildung der Wurzelhaare, die Größe und Menge derselben sowie auf die Anzahl der kranken und abgestorbenen Wurzeln. Weil bei Samen, die photodynamisch sehr stark geschädigt waren, die Grenze zwischen Wurzel und Hypokotyl oft nicht festzustellen war, ist unter der Bezeichnung »Wurzellänge« die Summe Wurzellänge + Hypokotyl zu verstehen und zwar bei allen in den Tabellen angeführten Samen mit Ausnahme von *Sinapis*. Die Länge ist in Millimetern angegeben

2. Versuche.

Um die Wirkung photodynamischer Farbstoffe auf die Samenkeimung zu ermitteln, wurden nach den eben besprochenen Methoden Versuche ausgeführt, wobei es sich zeigte, daß es hauptsächlich die Wurzeln sind, die je nach Lichtstärke, Art des Farbstoffes und Konzentration desselben geschädigt werden. Im übrigen besteht aber die Wirkung zunächst in einer oft sehr bedeutenden Verzögerung der Auskeimung, später in einer auffallenden Wachstumshemmung, bei starker Konzentration im Verlust des Richtungsvermögens und schließlich im Absterben der Wurzelspitze eventuell der ganzen Wurzel. In Konzentrationen von 1 : 800 bis 1 : 10.000 ist bei Safranin, Eosin und Magdalarot das durch den Einfluß dieser Farbstoffe und entsprechende Belichtung bedingte Absterben der Wurzelspitze regelmäßige Erscheinung, in der Konzentration 1 : 12.000 bis 1 : 20.000 schon selten, wobei das Safranin insofern eine Ausnahme macht, als es auch bei dieser Verdünnung die Wurzel häufig tötet. Ähnlich wie diese drei Stoffe verhält sich auch Methylenblau. In noch verdünnteren Lösungen (1 : 30.000 bis 1 : 1,000.000) wird die Wurzelspitze selten getötet, doch bleiben bis zu einer bestimmten Grenzkonzentration Sproß und Wurzel in ihrem Wachstum im Vergleich zu denjenigen des Kontrollsamens mehr oder weniger zurück. Diese Grenzkonzentration ist auch abhängig von der Lichtstärke und bewegt sich zwischen 50.000 und 100.000. Bei noch stärkerer Verdünnung über diese Grenzkonzentration hinaus tritt oft eine Wachstumsförderung (Stimulierung) ein, wie sie in der Natur zu finden ist, wenn kleine Dosen Gift dem lebenden Organismus einverleibt werden. Was nun speziell den Stengel betrifft, muß betont werden, daß er nie abstirbt, daß aber seine Blätter in den ersten Tagen der Versuchsanstellung nicht fähig sind, zur vollkommenen Chlorophyllbildung zu schreiten. Am deutlichsten zeigt dieses Phänomen *Sinapis alba*; während die Kotyledonen der Kontrollsamen schon tief grün sind, haben die Blätter der in den Farbstofflösungen gequollenen Samen ein je

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

nach der Stärke der Konzentration mehr oder weniger blasses Aussehen, das aber nach einigen Tagen fast immer der Chlorophyllfärbung weicht. Das von mir besonders betonte Kennzeichen der Schädigung der Pflanzenkeimlinge durch belichtete fluoreszierende Farbstoffe ist das »Krankwerden« der Wurzeln, das sich bei höheren Konzentrationen schon äußerlich durch das Braunwerden und Absterben der Wurzelspitze oder der ganzen Wurzel samt Hypokotyl verrät, ferner durch das Fehlen oder den Mangel von Wurzelhaaren und deren Länge, durch ein gerunzeltes, manchmal schuppiges Aussehen oder aber schon gleich nach dem Hervorkommen aus der Samenschale durch die Unfähigkeit, irgendeinem Tropismus in seiner Einwirkung zu folgen. Merkwürdig sind die oft zu beobachtenden »Wurzelstummel«, welche etwa 1 *mm* lang und einen Haarkranz tragend dem Hypokotyl wie Bürsten unten aufsitzen. Bei geringeren Konzentrationen treten diese Desorganisationserscheinungen zurück und dann ist es vorzugsweise nur die mindere Wurzellänge, welche zum Vergleich mit den Kontrollexemplaren herangezogen werden kann.

Es sei nun gleich vorweggenommen, daß zu starke Konzentrationen der Farbstoffe, wie es Lösungen 1 : 600, 1 : 800, 1 : 1000, 1 : 1200 und bei einigen Stoffen noch höhere sind, bei allen Samenarten auch im Dunkeln eine stark nachteilige Wirkung zeigen, die allerdings weit zurücksteht hinter derjenigen im Lichte, aber doch auffallend groß ist, so daß diese Keimlinge nie das Aussehen normal sich entwickelnder haben. Die Wurzeln sind kurz und machen einen eigentümlich steifen Eindruck; ebenso die Stengel. Bei Verwendung von Eosinlösungen bemerkte ich dieses Verhalten besonders schön bei *Sinapis alba*, und zwar noch bei einer Konzentration von 1 : 10.000. Alle diese Schädigungen im Dunkeln sind auf die Eigengiftigkeit der verwendeten Farbstoffe zurückzuführen, die bei hohen Lösungskonzentrationen zum Ausdrucke kommt.

Auf andere besondere Merkwürdigkeiten und auffallende Erscheinungen wird bei der Besprechung der einzelnen Versuche, von welchen ich mehrere in Tabellen vorführe, eingegangen werden.

Samen von *Lepidium sativum, Beta vulgaris, Brassica oleracea, Sinapis alba* und *Spinacia*, welche bei Anwendung von Methylenblau, Eosin und Rhodamin B in den Monaten Jänner, Februar und in der ersten Hälfte des März zur Keimung ausgelegt wurden, zeigten infolge der geringen Lichtintensität fast keine Unterschiede gegenüber den Kontrollsamen. Die kleinen, übrigens sehr schwankenden Differenzen in der Schnelligkeit der Auskeimung, die nach recht sonnigen Tagen beobachtet wurden, glich das schwache Licht der darauffolgenden Schnee- und Regentage wieder aus. Nur die Konzentrationen 1 : 600, 1 : 800 und 1 : 1000 bewirkten einige Keimungs- und Wachstumshemmung sowohl in Licht als auch in Dunkel, was auf eine gewöhnliche Giftwirkung

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

des angewendeten Farbstoffes zurückzuführen ist. Aber schon in der zweiten Hälfte des März war das Tageslicht stark genug, um mit fluoreszierenden Farbstoffen photodynamische Wirkung auszulösen, welche um so deutlicher zutage trat, je intensiver das Licht mit vorgerückter Jahreszeit wurde. Im folgenden sollen die Ergebnisse meiner Untersuchungen nach Farbstoffen geordnet besprochen und durch beigefügte Tabellen ergänzt werden.

Versuch I,

aufgestellt am 28. Juni 1921. Samen von *Sinapis alba* (je 50 Stück) durch 24 Stunden gequollen in Eosin 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Licht- und Dunkelversuch. Kontrolle mit H_2O. Diffuses Licht.

Tabelle I.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	3. Tag	10	1	4	6
		5. »	24	2	11	28
		7. »	34	5	17	37
	Dunkel	3. »	11	4	11	11
		5. »	26	5	23	25
		7. »	40	7	38	39
Stengellänge	Licht	3. »	6	0	2	3
		5. »	13	5	8	9
		7. »	18	8	11	11
	Dunkel	3. »	8	2	6	8
		5. »	25	10	23	24
		7. »	37	15	34	34
Kranke Wurzeln	Licht	3. »	0	0	15	5
		5. »	0	40	28	5
		7. »	0	40	32	5
	Dunkel	3. »	0	0	0	0
		5. »	0	28	10	0
		7. »	0	28	10	0

Vorstehende Tabelle zeigt trotz des in den Tagen dieser Versuchsanstellung fast durchwegs bewölkten Himmels auffallende Unterschiede in der Wurzel- und geringe auch in der Stengellänge der Versuchssamen gegenüber denjenigen der Kontrolle, gibt aber

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

gleichzeitig in der Kolonne 1 : 1000 das zahlenmäßige Bild der durch die Eigengiftigkeit bewirkten Schädigung im Dunkeln. Diese allzu große Wachstumshemmung bei starken und stärksten Konzentrationen ist im Lichte die Folge der kombinierten Eigengift- und photodynamischen Wirkung, kann also zur Beurteilung der reinen photodynamischen Wirkung nicht herangezogen werden. In die Tabellen wurden aber auch diese Befunde eingetragen, womit auf die Unzulänglichkeit beinahe aller Experimente mit zu stark konzentrierten Farbstofflösungen hingewiesen werden soll. Der Vergleich mit dem ebenfalls im Lichte aufgestellten Kontrollversuche ist nie allein maßgebend; weit wichtiger ist die Beurteilung der Ergebnisse mit Rücksicht auf die Dunkelversuche derselben Konzentration. Nur dann, wenn die Farbstoffversuche im Dunkeln mit dem ebenfalls im Dunkeln gehaltenen Kontrollversuche zahlenmäßig übereinstimmen oder sich demselben stark nähern, wird die Schädigung im Lichte auf photodynamischer Wirkung allein beruhen; in jedem anderen Falle muß mit kombinierten Wirkungen gerechnet werden. Während die Verdünnung 1 : 1000 kombinierte Wirkung zeigt, tritt bei 1 : 10.000 die photodynamische Wirkung hervor: die Wurzeln sind nur halb so lang als beim Kontrollversuch und auch der Stengel ist bedeutend kürzer. Sehr eigentümlich ist besonders bei diesen beiden Konzentrationen und am auffallendsten ebenfalls bei *Sinapis* das steife Aussehen der Keimlinge in den Dunkelversuchen. Wurzel und Stengel sind vollkommen gerade gestreckt, während die Lichtexemplare und die Kontrollkeimlinge im Dunkel natürlich gebogen und gekrümmt sind. Eben wegen dieser Eigentümlichkeit, die ganz abnormal ist, bezeichnete ich auch diese Wurzeln als krank, obschon sie die Wurzelspitze besitzen und auch — wenn auch bei 1 : 1000 nicht bedeutend — wachsen. Wurzelhaare sind bei 1 : 1000 (Licht) keine oder sehr wenige vorhanden und sind sehr kurz. Die Wurzeln selbst sind schon zur Zeit der Auskeimung geschädigt, denn bei einer Länge von 3 bis 4 *mm*, wo man schon imstande wäre, ihren eventuellen Tropismus zu verfolgen, stehen dieselben passiv jeder solchen Einwirkung gegenüber. Nach einiger Zeit werden sie braun und vertrocknen. Kennzeichnend für alle geschädigten Keimlinge der hier gebrauchten Konzentrationen ist der rasche Übergang von Hypokotyl zur Wurzel. Das vollkommen normal scheinende, kräftige Hypokotyl geht unvermittelt in die dünne, schlaffe Wurzel über. Von den zu je 50 verwendeten Samen keimten von 1 : 1000 am dritten Tage erst 5, am fünften Tage 17 und am siebenten 32 aus, von 1 : 10.000 an den genannten Tagen 35, 45, 50, während im Kontrollversuche (H_2O) schon am ersten Tage alle 50 ausgekeimt waren.

Auffallende Resultate wurden mit diesem Farbstoff auch erzielt bei *Vicia sativa*, *Lens esculenta* und *Pisum sativum* (Tafel, Fig. I und II).

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch II,

aufgestellt am 7. Juni 1921. Samen von *Triticum durum* (je 50 Stück) durch 24 Stunden gequollen in Eosin 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 20.000, 1 : 50.000. Licht- und Dunkelversuch. Kontrolle mit H_2O. Starkes Sonnenlicht.

Tabelle II.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 20.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	2. Tag	10	2	5	6	6
		3. »	25	5	10	15	17
		7. »	93	22	34	51	60
	Dunkel	2. »	12	4	12	12	12
		3. »	30	17	31	37	32
		7. »	86	24	90	102	104
Stengellänge	Licht	2. »	2	1	2	2	2
		3. »	12	6	10	12	12
		7. »	63	22	57	62	69
	Dunkel	2. »	3	2	3	3	4
		3. »	17	8	15	16	17
		7. »	92	49	82	84	93
Kranke Wurzeln	Licht	2. »	0	0	0	0	0
		3. »	0	43	20	3	0
		7. »	0	45	20	3	0
	Dunkel	2. »	0	0	0	0	0
		3. »	0	21	0	0	0
		7. »	0	21	0	0	0

Von den 50 Keimlingen 1 : 1000 hatten am 13. Juni, als der Versuch abgeschlossen wurde, nur 20 einige wenige Wurzelhaare, welche 1 *mm* lang waren im Gegensatz zu den 3 *mm* langen Haaren der Kontrollsamen. Auch jene von 1 : 10.000 blieben in Zahl und Länge hinter dem Wasserversuche zurück. Gerade hier bei diesem Objekt ist bei hoher Konzentration die Schädigung auch im Dunkeln eine enorme, so daß der nur photodynamisch schädigend wirksame Konzentrationsbezirk dieses Farbstoffes in bezug auf Wurzelwachstum sich etwa von 1 : 10.000 bis 1 : 100.000 erstreckt. Der Stengel zeigt bei dieser letztgenannten Konzentration bereits eine Wachstumsförderung, welche übrigens im Dunkeln mit Ausnahme von 1 : 1000 fast immer bei allen Verdünnungsgraden zu beobachten ist.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch III,

aufgestellt am 21. Juni 1921. Samen von *Lens esculenta* (50 Stück) durch 24 Stunden quellen gelassen in Safranin 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000, 1 : 100.000. Licht- und Dunkelversuch. Kontrolle in Wasser. Starkes Sonnenlicht. Kühlvorrichtung.

Tabelle III.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000	1 : 100.000
Wurzellänge	Licht	2. Tag	6	3	3	5	6
		5. »	42	5	7	15	29
		7. »	73	5	10	25	40
	Dunkel	2. »	5	2	3	4	5
		5. »	40	26	35	40	41
		7. »	68	40	67	70	73
Stengellänge	Licht	2. »	0	0	0	0	0
		5. »	13	9	10	12	14
		7. »	22	14	16	21	22
	Dunkel	2. »	0	0	0	0	0
		5. »	15	12	15	15	16
		7. »	27	22	27	27	27
Kranke Wurzeln	Licht	2. »	0	0	0	0	0
		5. »	0	46	39	26	10
		7. »	0	46	39	26	10
	Dunkel	2. »	0	0	0	0	0
		5. »	0	20	0	0	0
		7. »	0	20	0	0	0

Safranin ist einer der in bezug auf Keimlingsschädigung am kräftigsten wirkenden fluoreszierenden Farbstoffe, der bei sehr starkem Lichte selbst in der Verdünnung 1 : 50.000 noch eine außerordentlich große lichtkatalysatorische Wirkung entfaltet. Die Wurzeln von 1 : 1000 und 1 : 10.000 sind arg geschädigt; bei ihrer geringen Länge von 5 bis 7 *mm* sind sie stark gerunzelt und gedreht und nur wenige aus 1 : 10.000 haben eine gesunde Wurzelspitze. Auch im Dunkeln ist die Schädigung bei 1 : 1000 bedeutend, doch sind die Wurzeln nur kurz geblieben und sind entweder gar nicht oder nur minimal gerunzelt und nicht gedreht. Ähnliche Resultate wurden erzielt bei *Pisum sativum*, *Vicia sativa* und *Sinapis alba*.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch IV.

aufgestellt am 27. April 1921. Samen von *Sinapis alba* durch 24 Stunden quellen gelassen in Magdalarot 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Licht- und Dunkelversuch. Kontrolle in H_2O. Starkes Tageslicht.

Tabelle IV.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	3. Tag	9	1	5	6
		5. »	22	2	13	22
		7. »	31	5	21	34
	Dunkel	3. »	11	4	10	11
		5. »	26	9	24	27
		7. »	40	11	38	40
Stengellänge	Licht	3. »	6	0	3	4
		5. »	12	6	9	9
		7. »	19	9	13	13
	Dunkel	3. »	10	2	7	10
		5. »	25	10	21	23
		7. »	36	16	33	34
Kranke Wurzeln	Licht	3. »	0	0	5	0
		5. »	0	14	5	2
		7. »	0	40	5	2
	Dunkel	3. »	0	0	0	0
		5. »	0	20	0	0
		7. »	0	21	0	0

Während im Kontrollversuch schon am dritten Tage alle Samen ausgekeimt waren, keimten am selben Tage von 1 : 1000 nur 15, am fünften Tage betrug die Zahl der ausgekeimten 30 und zwei Tage später 40. Von diesen hatten nur 15 Wurzelhaare, die ganz verstreut standen; ihre Länge betrug 2 *mm*, die der Kontrollhaare 4 *mm*. Alle Wurzeln dieser Konzentration hatten das Richtungsvermögen verloren. Sie waren braun, aber nicht gerunzelt. Am achten Tage wurden die stärksten Keimlinge aller Lösungskonzentrationen in Blumentöpfe gepflanzt, um die weitere Entwicklung des Stengels zu beobachten; ebenso auch Kontrollkeimlinge. Die durch fluoreszierende Farbstoffe geschädigten Stengel erreichten nicht die Länge des normalen, doch näherten sie sich

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

derselben um so mehr, je geringer die Konzentration war. Von 1 : 1000 gingen die meisten ein, die übriggebliebenen schritten nicht zur Blütenbildung; alle anderen Pflänzchen blühten, wobei die Blüten des Kontrollversuches am größten und reichlichsten waren.

Ein Versuch vom 21. April 1921 mit *Sinapis* und Magdalarot wurde photographiert, Fig. III und IV.

Versuch V,

aufgestellt am 27. Mai 1921. Samen von *Lens esculenta* durch 24 Stunden quellen gelassen in Magdalarot 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Sonst wie bei Versuch IV. Kühlvorrichtung.

Tabelle V.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	3. Tag	14	5	7	13
		5. »	45	5	16	32
		6. »	50	5	18	41
	Dunkel	3. »	12	8	9	10
		5. »	50	25	47	48
		6. »	60	30	58	58
Stengellänge	Licht	3. »	3	0	0	2
		5. »	14	3	12	16
		6. »	15	7	13	19
	Dunkel	3. »	7	0	0	5
		5. »	17	14	16	18
		6. »	21	19	20	23
Kranke Wurzeln	Licht	3. »	0	40	25	5
		5. »	0	40	26	7
		6. »	0	40	26	7
	Dunkel	3. »	0	20	0	0
		5. »	0	20	0	0
		6. »	0	20	0	0

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch VI,

aufgestellt am 31. Mai 1921. Samen von *Pisum sativum*, je 50 Stück, durch 23 Stunden quellen gelassen in Magdalarot 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Sonst wie bei Versuch IV. Kühlvorrichtung.

Tabelle VI.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	4. Tag	46	5	17	29
		6. »	70	5	34	53
		8. »	90	5	43	67
	Dunkel	4. »	53	33	54	53
		6. »	80	49	80	79
		8. »	100	54	98	101
Stengellänge	Licht	4. »	7	5	6	7
		6. »	14	11	12	14
		8. »	20	14	17	19
	Dunkel	4. »	15	12	13	13
		6. »	22	20	21	21
		8. »	36	25	34	33
Kranke Wurzeln	Licht	4. »	0	49	14	0
		6. »	0	49	14	0
		8. »	0	49	14	0
	Dunkel	4. »	0	16	0	0
		6. »	0	16	0	0
		8. »	0	16	0	0

Am fünften Versuchstage waren die Wurzeln von 1 : 1000 schon ganz eingetrocknet und hatten nur wenige Nebenwurzeln. Am achten Versuchstage wurden die Keimlinge in Blumentöpfe gegeben. Die Stengel der aus 1 : 10.000 und 1 : 50.000 überholten in einigen Tagen die Kontrollstengel an Länge, während jene aus 1 : 1000 immer mehr oder weniger Zwergformen blieben.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch VII,

aufgestellt am 1. Juli 1921. Samen von *Lens esculenta* durch 24 Stunden zur Quellung gelassen in Fuchsin 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Licht- und Dunkelversuch. Kontrolle in H_2O. Starkes Tageslicht.

Tabelle VII.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	3. Tag	14	11	13	14
		5. »	41	32	40	43
		6. »	50	35	49	52
	Dunkel	3. »	11	10	10	12
		5. »	40	31	41	41
		6. »	60	38	58	59
Stengellänge	Licht	3. »	3	0	0	2
		5. »	14	10	14	14
		6. »	16	13	16	16
	Dunkel	3. »	8	0	0	5
		5. »	19	18	18	19
		6. »	22	19	21	22
Kranke Wurzeln	Licht	3. »	0	0	0	0
		5. »	0	0	0	0
		6. »	0	0	0	0
	Dunkel	3. »	0	0	0	0
		5. »	0	0	0	0
		6. »	0	0	0	0

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, weist auch dieser nichtfluoreszierende Farbstoff in der Konzentration 1 : 1000 eine Schädigung auf, und zwar sowohl im Licht als im Dunkel. Diese Schädigung ist keine Folge der photodynamischen Wirkung, sondern ist bedingt — wie zum Teil auch bei den fluoreszierenden Farbstoffen solcher Konzentration — durch die Eigengiftigkeit des verwendeten Stoffes. Bei allen übrigen Konzentrationen konnte keine Schädigung konstatiert werden. Dieselben Resultate wurden mit anderen Samen gewonnen.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch VIII,

aufgestellt am 1. Juli 1921. Samen von *Pisum sativum*, durch 24 Stunden quellen gelassen in Erythrosin 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Licht- und Dunkelversuch. Kontrolle in H_2O. Schwaches diffuses Licht. Keine Kühlvorrichtung.

Tabelle VIII.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	3. Tag	26	7	11	26
		5. »	55	7	21	40
		7. »	84	7	30	57
	Dunkel	3. »	29	18	27	28
		5. »	65	28	66	70
		7. »	94	36	94	103
Stengellänge	Licht	3. »	0	0	0	0
		5. »	10	5	8	9
		7. »	18	9	12	12
	Dunkel	3. »	7	0	8	8
		5. »	19	15	18	21
		7. »	32	26	32	39
Kranke Wurzeln	Licht	3. »	0	45	21	2
		5. »	0	45	29	2
		7. »	0	45	29	2
	Dunkel	3. »	0	20	0	0
		5. »	0	20	0	0
		7. »	0	20	0	0

Wurzeln von 1 : 1000 und 1 : 10.000 sind stark gerunzelt und mehrfach gebrochen. Viele sind schneckenförmig eingedreht. Einige von 1 : 1000 haben ein schuppiges Aussehen. Die Wurzeln der im Dunkeln gehaltenen Keimlinge sind nur wenig gerunzelt, haben aber bei 1 : 1000 wie im Lichte auch kein Richtungsvermögen.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch IX,

aufgestellt am 7. Juni 1921. Samen von *Pisum sativum* 24 Stunden gequollen in Anilinblau 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Licht und Dunkel. Kontrolle in H_2O. Starkes Sonnenlicht. Kühlvorrichtung.

Tabelle IX.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	2. Tag	10	9	9	10
		4. »	45	46	45	46
		8. »	93	91	93	93
	Dunkel	2. »	9	9	9	10
		4. »	46	46	46	48
		8. »	108	109	108	110
Stengellänge	Licht	2. »	0	0	0	0
		4. »	8	4	8	8
		8. »	20	17	21	22
	Dunkel	2. »	0	0	0	0
		4. »	16	16	15	18
		8. »	35	35	34	36
Kranke Wurzeln	Licht	2. »	0	0	0	0
		4. »	0	0	0	0
		8. »	0	0	0	0
	Dunkel	2. »	0	0	0	0
		4. »	0	0	0	0
		8. »	0	0	0	0

Anilinblau wurde als nicht fluoreszierender Farbstoff nebst Fuchsin zur Kontrolle verwendet. Dieser Farbstoff zeigt selbst bei der Konzentration 1 : 1000 keine Schädigung der Wurzel, wohl aber eine Wachstumshemmung des Stengels. Bei *Lens*, *Sinapis* und *Spinacia* trat zuweilen in 1 : 1000 eine kaum merkliche Schädigung der Wurzeln ein.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch X,

aufgestellt am 30. Juni 1921. Samen von *Sinapis* durch 24 Stunden quellen gelassen in Methylenblau 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000, 1 : 100.000. Licht- und Dunkelversuche. Kontrolle in H_2O. Starkes Licht. Kühlvorrichtung.

Tabelle X.

			H_2O	1:1000	1:10.000	1:50.000	1:100.000
Wurzellänge	Licht	2. Tag	4	2	2	3	3
		5. »	21	5	11	14	22
		6. »	30	6	14	21	32
	Dunkel	2. »	5	3	4	4	5
		5. »	27	19	27	28	31
		6. »	31	24	31	32	33
Stengellänge	Licht	2. »	3	2	3	3	3
		5. »	14	7	10	12	15
		6. »	16	9	12	15	16
	Dunkel	2. »	5	3	4	5	5
		5. »	24	17	21	24	25
		6. »	30	22	26	31	31
Kranke Wurzeln	Licht	2. »	0	0	0	0	0
		5. »	0	41	20	5	0
		6. »	0	41	20	5	0
	Dunkel	2. »	0	25	7	0	0
		5. »	0	25	7	0	0
		6. »	0	25	7	0	0

1 : 1000 (Licht): Die Wurzeln sind eingetrocknet, die Pflanze entwickelt keine Nebenwurzeln. Die Mehrzahl der Keimlinge liegt am Boden, die Stengel wachsen am Boden hin. Das Hypokotyl ist stark entwickelt und trägt am Ende die dünne tote Wurzel. Wurzelhaare fehlen oder sind bei noch lebenden Wurzeln in geringer Zahl vorhanden.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

In den Kontrollversuchen des Dunkeln fallen die grün gefärbten Blätter auf, die durch das Gelb des Etiolements und das Blau des Farbstoffes zu ihrer Farbe kommen. Mit Ausnahme 1 : 1000 sind alle Pflänzchen ungeschädigt.

Versuch XI,

aufgestellt am 12. Mai 1921. Samen von *Sinapis alba* durch 24 Stunden gequollen in Rhodamin 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 100.000, 1 : 1,000.000. Licht und Dunkel. Kontrolle in H_2O. Helles Licht. Kühlvorrichtung.

Tabelle XI.

			H_2O	1:1000	1:10.000	1:100.000	1:1,000.000
Wurzellänge	Licht	2. Tag	4	2	3	4	4
		7. »	30	5	9	22	29
		8. »	32	9	15	28	34
	Dunkel	2. »	5	3	6	6	6
		7. »	36	29	36	35	35
		8. »	40	32	41	40	41
Stengellänge	Licht	2. »	3	2	2	3	3
		7. »	19	14	15	15	19
		8. »	20	15	15	16	22
	Dunkel	2. »	5	3	4	4	5
		7. »	36	30	36	36	38
		8. »	37	30	37	38	39
Kranke Wurzeln	Licht	2. »	0	0	0	0	0
		7. »	0	45	9	0	0
		8. »	0	45	27	0	0
	Dunkel	2. »	0	0	0	0	0
		7. »	0	5	0	0	0
		8. »	0	5	0	0	0

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Ähnliche Ergebnisse erzielte ich mit *Spinacia, Lepidium. Brassica, Lens, Vicia* und *Pisum.*

Versuch XII,

aufgestellt am 21. Juni 1921. Samen von *Lens esculenta* (50 Stück) durch 24 Stunden gequollen in Diazoresorcin 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Licht und Dunkel. Kontrolle. Diffuses Licht. Keine Kühlvorrichtung.

Tabelle XII.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	2. Tag	6	2	3	5
		3. »	14	8	9	13
		6. »	43	30	35	46
	Dunkel	2. »	5	4	5	5
		3. »	11	9	11	12
		6. »	42	42	43	43
Stengellänge	Licht	2. »	0	0	0	0
		3. »	3	2	3	3
		6. »	15	14	15	16
	Dunkel	2. »	0	0	0	0
		3. »	8	8	8	9
		6. »	21	20	22	22
Kranke Wurzeln	Licht	2. »	0	0	0	0
		3. »	0	10	5	0
		6. »	0	10	5	0
	Dunkel	2. »	0	0	0	0
		3. »	0	0	0	0
		6. »	0	0	0	0

Pisum, Vicia, Sinapis, Lepidium, Zea Mays, Triticum und *Spinacia* ergaben ähnliche Ergebnisse.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch XIII,

aufgestellt am 31. Mai 1921. Samen von *Pisum sativum* durch 24 Stunden quellen gelassen in Fluoresceïn 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Licht und Dunkel. Kontrolle. Starkes Tageslicht. Kühlvorrichtung.

Tabelle XIII.

			H_2O	1 : 1000	1 : 10.000	1 : 50.000
Wurzellänge	Licht	2. Tag	11	9	10	11
		4. »	47	33	39	48
		6. »	72	52	61	72
	Dunkel	2. »	9	9	9	9
		4. »	48	49	48	50
		6. »	80	79	84	86
Stengellänge	Licht	2. »	0	0	0	0
		4. »	7	6	7	7
		6. »	16	14	16	17
	Dunkel	2. »	0	0	0	0
		4. »	14	12	14	13
		6. »	27	26	28	27
Kranke Wurzeln	Licht	2. »	0	0	0	0
		4. »	0	10	4	0
		6. »	0	10	4	0
	Dunkel	2. »	0	0	0	0
		4. »	0	0	0	0
		6. »	0	0	0	0

So stark auch dieser Farbstoff fluoresziert, so gering ist seine photodynamische Wirkung. Auch mit anderen Samen konnte keine größere Schädigung erzielt werden.

Wie aus den wenigen tabellarisch zusammengestellten Versuchen, die so gewählt wurden, daß sie Art und Stärke der photodynamischen Schädigung leicht erkennen lassen, ersichtlich ist, nimmt die photodynamische Wirkung mit der Konzentration der fluoreszierenden Farbstoffe zu, bis sie etwa um 1 : 1000 bis oft 1 : 10.000 eine Grenze erreicht, von der an sie durch die Eigengiftigkeit der Farbstoffe verstärkt wird. Strenge Rechenschaft über

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

die Schädigung kann, wenn keine äußerlichen Schädigungsmomente vorliegen, nur der zahlenmäßige Längenvergleich mit den Kontrollexemplaren geben.

3. Wesen der photodynamischen Wirkung und Ort des Angriffes.

In bezug auf das Wesen der photodynamischen Wirkung schließe ich mich der Ansicht Noack's an, daß es sich um Farbstoffperoxyde handelt, welche als Lichtkatalysatoren fungieren. Über den Ort des Angriffes dieser Peroxyde, ob eine Innen- oder Außenwirkung vorliegt, geben die gemachten Versuche keinen entscheidenden Aufschluß, da doch das Auseinanderhalten der beiden Wirkungsweisen und das Abgegrenztsein gegeneinander fast unmöglich ist. Die Schädigung kann von der stärker wie das Plasma gefärbten Zellwand nach innen vorgehen, muß es aber nicht. Schon Noack spricht sich in dem Sinne aus, daß Vorhandensein oder Nichtvorhandensein des Farbstoffes im Plasma keineswegs die Annahme oder Nichtannahme einer Innenwirkung berechtigt und daß das Fehlen einer Vitalfärbung die Außenwirkung noch nicht in sich einschließt, obschon er die letztere verteidigt. Während Noack in der photodynamischen Beinflussung des Plasmas eine Außenwirkung sieht, verteidigt Metzner teils durch kritisches Überlegen, teils an der Hand von Versuchen die photodynamische Innenwirkung. Die Tatsache, daß im Starklichtspektrum das Wirkungsmaximum gegenüber dem Absorptionsspektrum der Lösung verschoben erscheint, erklärt er auf diese Weise, daß der Farbstoff in die Zelle eindringt und dort ein anderes Spektrum besitzt als in der umgebenden wässerigen Lösung; das Wirkungsmaximum fällt mit dem Absorptionsspektrum des Plasmas zusammen, was für die Innenwirkung spricht.

Die Versuche mit Pflanzenkeimlingen lassen beide Erklärungen zu. Aus Schnitten durch Samen ist ersichtlich, daß Farbstoff, der im Innern des Endosperms oft weder makroskopisch noch mikroskopisch wahrgenommen werden kann, in den Holzelementen des Keimlings gespeichert ist. Diese makroskopische Speicherung des Farbstoffes ist ein Beweis dafür, daß derselbe den ganzen Samen durchdringt, wenn auch in sehr geringer Menge. In der Regel aber ist das Endosperm tief ins Innere hinein wenigstens schwach gefärbt (bei starken Konzentrationen), während die Samenschale von Farbstoffen vollkommen durchdrungen ist und die der Samenschale angrenzenden Zellschichten ebenso ziemlich starke Färbung aufweisen. Weil nun Farbstoff tatsächlich auch im Innern des Samens vorhanden ist, könnte man annehmen, daß die photodynamische Wirkung aus dem Innern des Samens nach außen sich entfaltet, womit aber noch nicht dargelegt ist, daß es eine Innenwirkung ist, eine Schädigung vom Plasma aus. Doch scheinen folgende Beobachtungen für die Innenwirkung zu sprechen:

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

a) Pisum sativum, das durch 24 Stunden zur Quellung in Eosin 1 : 10.000 und 1 : 25.000 belassen wurde, keimte dann 48 Stunden im Dunkeln. Die Wurzeln der Samen aus E. 1 : 10.000 hatten nach dieser Zeit eine Länge von 25 *mm*, jene von E. 1 : 25.000 eine solche von 32 *mm*. Nun wurden die Keimlinge unter Abhalten der Wärmestrahlen in starkes Sonnenlicht gestellt und nach abermals 48 Stunden kontrolliert. Ohne sich äußerlich irgendwie verändert zu haben, ohne jede Bräunung und Runzelung, stellte die Wurzel aus E. 1 : 10.000 das Längenwachstum ein; ihre Länge betrug wieder nur 25 *mm*. Nach weiteren drei Tagen war sich die Länge der Mehrzahl dieser Wurzeln immer noch gleich geblieben, aber die Wurzelspitze war bereits gebräunt und hinter der Wurzelspitze wiesen viele Exemplare Risse auf, als ob die Wurzel geplatzt wäre. Wurzeln aus E. 1 : 25.000 hielten im Längenwachstum nicht ein und unterschieden sich nicht viel von den zur Kontrolle im Dunkeln belassenen. Bei allen Versuchen konnte übrigens festgestellt werden, daß Samen mit starken Wurzeln, mit fluoreszierenden Farbstoffen nicht zu starker Konzentration imbibiert und dann zur Keimung durch längere Zeit im Dunkeln gehalten, dem Lichte ausgesetzt fast keine photodynamische Wirkung zeigen; es ist eben einerseits durch das schnelle Wachstum im Dunkeln, durch die Zellteilungen, der Farbstoff auf eine immer größer werdende Zahl von Zellen aufgeteilt und durch das Wasser des Filtrierpapieres derart verdünnt worden, daß er, sei er nun bloß in der Zellwand oder sei er auch im Plasma, in einer Konzentration vorliegt, die bei dem ziemlich starken Widerstande der Wurzeln photodynamisch nur wenig oder gar nicht wirken kann, andrerseits aber mag die Unfähigkeit solcher Wurzeln, durch Licht sensibilisiert zu werden, noch in weitaus höherem Maße darauf beruhen, daß die photodynamischen Stoffe in der Zelle chemisch verändert wurden. Auch bei ständigen Lichtversuchen haben Wurzeln, welche die ersten Tage ohne merkliche Schädigung überdauerten, später keine andere Wirkung gezeigt, als daß sie dem Kontrollversuche im Wachstum zurückblieben.

b) Eine ähnliche Erscheinung wie bei *Pisum* wurde in weit größerem Ausmaße bei den zarten Würzelchen von Senfsamen wahrgenommen. Je 100 Stück wurden der Quellung in H_2O und Methylenblau 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000 und 1 : 100.000 unterworfen und dann 5 Tage im Dunkeln keimen gelassen. Nach dieser Zeit wurden je 50 derselben, die gesunde Wurzeln und aufrechte Stengel hatten, der Einwirkung des Sonnenlichtes ausgesetzt. Die Wirkung tritt schon nach einigen Stunden zutage. Die Wurzel wird dünner, ohne irgendwie braun oder mißfarbig geworden zu sein und die Grenze zwischen Stengel und Wurzel tritt auf diese Weise kraß hervor. Nach einem Tage ist die Schädigung noch größer, die Wurzel wird noch dünner und etwas mißfarbig und die Pflanze knickt ein. Viele Blätter bekommen Flecken.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Am ersten und dritten Tage der Einwirkung ist das Versuchsbild folgendes:

Tabelle 1.

		H_2O	1:1000	1:10.000	1:50.000	1:100.000
Gesunde Wurzeln und aufrechte Stengel hatten	am 1. Tage	50	35	46	50	50
	am 3. Tage	50	0	10	25	30

Das Einstellen des Längenwachstums ohne sichtbare äußere Veränderung einerseits, sowie die durch irgendwelche fremden Prozesse im Innern hervorgerufene Turgoränderung, deren Folge wohl das Schlaff- und Dünnwerden der Wurzel zunächst ist, andrerseits, kann durch das »Angeätzt«-Werden des Plasmas von außen zwar als möglich gedacht, aber weniger leicht gedeutet werden. Ebenso stelle ich die Wachstumshemmung als Innenwirkung hin, während die Erscheinungen, unter welchen Wurzeln bei starken Konzentrationen zugrunde gehen (Bräunung, runzeliges Aussehen, Rißwunden usw.), eine Außenwirkung eher der Innenwirkung vorziehen, als sie ausschließen lassen. Es mag auch sein, daß in allen diesen Fällen sowohl Innen- wie Außenwirkung vorliegt. Versuche über diese Frage sind in Vorbereitung.

4. Zusammenfassung.

Werden Samen von *Pisum sativum*, *Vicia sativa*, *Lens esculenta*, *Sinapis alba*, *Triticum durum*, *Brassica oleracea*, *Lepidium sativum*, *Beta vulgaris* und *Spinacia* in fluoreszierenden Farbstoffen durch 24 Stunden hindurch quellen gelassen und dann zur Keimung ins Licht gestellt, so treten Erscheinungen auf, welche, da sie im Dunkeln nicht oder nur in geringem Maße beobachtet werden, als Folgen photodynamischer Wirkung angesehen werden müssen. Diese Erscheinungen umfassen Keimungshemmungen und Wachstumshemmungen sowie andere Schädigungen verschiedener Art. Der Grad jedweder Schädigung ist abhängig von der Stärke des Lichtes, der Art des fluoreszierenden Farbstoffes und der Konzentration desselben, und zwar in der Weise, daß mit der Lichtintensität und der Farbstoffkonzentration auch die photodynamische Wirkung zunimmt. Von den verwendeten Farbstoffen haben die größte Schädigung hervorgerufen Eosin, Safranin, Magdalarot und Erythrosin, weniger stark wirkten Methylenblau, Rhodamin und Diazoresorcin, während der am schönsten fluoreszierende Farbstoff, das Fluoresceïn, eine sehr geringe lichtkatalytische Wirkung ausübte.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Zunächst fällt es auf, daß bestimmte Samen, z. B. *Pisum sativum*, *Lens esculenta* und *Sinapis alba* sowie in geringerem Maße auch alle übrigen untersuchten, bei Verwendung von hohen Konzentrationen fluoreszierender Farbstoffe (1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 20.000) später auskeimen als die Kontrollsamen, welche die Quellung in Wasser durchmachen, und zwar um so langsamer, je stärker die Konzentration ist. Die späteren Schädigungsprozesse setzen sowohl im Stengel wie in der Wurzel ein, doch bekunden sie sich beim ersteren nur in einer minimalen Wachstumshemmung. Wie bei der Einwirkung anderer Strahlen (Radium-, Röntgen- und ultraviolette Strahlen) hemmt auch hier das Chlorophyllfilter des Stengels und Blattes die schädigende Wirkung, während die vom Chlorophyll ungeschützte, viel zartere Wurzel alle Grade von Giftwirkung zeigt bis zum vollständigen Verluste der Lebenstätigkeit.

Der leichteste Grad der Wurzelschädigung besteht in einer Wachstumshemmung, wie sie verursacht wird durch Eosin- und Safraninlösungen 1 : 20.000 bis 1 : 100.000, Magdalarot-, Erythrosin- und Methylenblaulösungen 1 : 20.000 bis 1 : 50.000, Diazoresorcinlösung 1 : 10.000 bis 1 : 20.000 und Fluoresceïnlösung 1 : 1000 bis 1 : 10.000. Bei allen diesen Farbstoffen sind die hier angegebenen geringsten Konzentrationen für die Wachstumshemmung zugleich die stärksten Konzentrationen für eine eventuell eintretende Stimulierung, also Wachstumsförderung. Doch sollen diese Zahlen keine fixen Grenzen bedeuten, die aufzustellen bei so vielen Bedingungsfaktoren (wie Samen, Herkunft desselben, Reife desselben sowie Art und Stärke des Lichtes) unmöglich ist. Bei diesem ersten Grad der Wurzelschädigung fehlen Wurzelhaare nie und haben immer oder fast immer die normale Länge. Der Stengel bleibt etwas oder gar nicht im Wachstum zurück oder aber zeigt bei den sehr verdünnten Lösungen eine beträchtliche Wachstumsförderung.

Ein höherer Grad der Schädigung ist das vielfach beobachtete Absterben der Wurzelspitze, das Einstellen des Längenwachstums, wobei aber das Hypokotyl und der kleine Teil der Wurzel erhalten bleibt, welcher nun nach allen Richtungen Nebenwurzeln aussendet. Am Hypokotyl ist Adventivwurzelbildung häufig. Oft tritt Wurzelregeneration ein, indem sich am Ende des Wurzelstummels, dicht am gebildeten Kallus, eine neue Wurzel entwickelt, welche die Richtung der Wurzel erster Ordnung einnimmt. Die besprochene Schädigung findet man oft bei Verwendung von *Pisum*- und *Lens*-Samen in Eosin, Magdalarot und Erythrosin 1 : 10.000 bis 1 : 20.000, Safranin 1 : 10.000 bis 1 : 50.000 und Methylenblau 1 : 10.000. Dabei tritt die Bildung der Wurzelhaare zurück und die ausgebildeten Haare sind merklich kleiner als die des Kontrollsamens. Der Stengel erreicht in der Regel nicht die Höhe des normalen.

Der höchsten Stufe der Giftwirkung geht der vollständige Verlust jedwedem Richtungsvermögen voraus. Die aus dem Samen

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

hervorgekommene Wurzel reagiert weder auf geotropische noch auf hydrotropische Reize. Nach einigen Tagen (zwei bis drei) wird die Wurzel bräunlich und auch das Hypokotyl. Dabei werden sie gerunzelt, vielfach gekrümmt und oft ganz spiralig eingedreht. Mit Ausnahme der Wurzelhaube, welche vielfach erhalten und ganz braun ist, ist oft die ganze Wurzel rissig und quer gespalten. Die Wurzelhaare fehlen fast immer. Sind sie vorhanden, so sind sie sehr klein und in äußerst geringer Zahl. Der Stengel bleibt im Wachstum bedeutend zurück und ist etwas schwächer als der der Kontrolle. Solche Schädigung stellte ich fest bei Eosin, Magdalarot, Safranin und Erythrosin 1 : 1000 und oft selbst bei 1 : 10.000, ferner bei Methylenblau 1 : 1000. Im Dunkeln charakterisiert die Einwirkung so starker Konzentrationen die besonders bei *Sinapis* in Eosinlösung immer vorhandene Steifheit der Wurzel und des Stengels.

Im allgemeinen bleibt die Länge der Wurzel hinter jener der Kontrollkeimung um das zwei-, drei-, vier-, ja selbst siebenfache zurück, was aus den Tabellen ersichtlich ist.

Fluoreszierende Farbstoffe, welche zu konzentriert gebraucht werden (1 : 600, 1 : 800, 1 : 1000, bei gewissen Samen und Farbstoffen sogar 1 : 10.000), wirken auch im Dunkeln nachteilig, daher ist ihre Wirkung im Lichte auf kombinierte photodynamische Beeinflussung + Eigengiftigkeit zurückzuführen, was von den übrigen Forschern wohl zu wenig betont wurde.

Die Kontrollösungen von nicht fluoreszierendem Anilinblau und Fuchsin zeigten keine Schädigung. Die Konzentration 1 : 1000 verursachte aber auch hier eine Eigengiftwirkung sowohl im Lichte als auch im Dunkeln.

Der Angriffsort der photodynamischen Wirkung kann sowohl in der Zelle als in der Zellwand oder irgendwo außerhalb der Plasmahaut liegen. Die Einstellung des Längenwachstums der Wurzel, ferner die Wachstumshemmung bei geringer Konzentration und das rasche Absterben der Wurzel von Keimlingen, welche erst nach mehreren Tagen der Dunkelkeimung ins Licht gestellt werden, spricht mehr für eine Innenwirkung, während die starke Schädigung der Wurzel in stark konzentrierten Lösungen die Außenwirkung eher erklären könnte. Es ist nicht ausgeschlossen, daß eine Kombination beider Wirkungen stattfindet.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Figurenerklärung.

A. Versuch vom 16. Juni 1921. Quellung von *Pisum sativum* in H_2O und Eosin 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 50.000. Versuch aufgestellt in Licht und Dunkel am 17. Juni und am 22. Juni photographiert.

Fig. I. Von oben nach unten:

1. Reihe H_2O Licht
2. » Eosin 1 : 1000 »
3. » » 1 : 10.000 »
4. » » 1 : 50.000 »

Fig. II. Von oben nach unten:

1. Reihe Eosin 1 : 10.000 Licht
2. » » 1 : 10.000 Dunkel
3. » » 1 : 50.000 Licht
4. » » 1 : 50.000 Dunkel

B. Versuch vom 21. April 1921. Quellung von *Sinapis alba* in H_2O und Magdalarot 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 100.000. Versuch aufgestellt in Licht und Dunkel am 22. April und am 25. April photographiert.

Fig. III. Von oben nach unten:

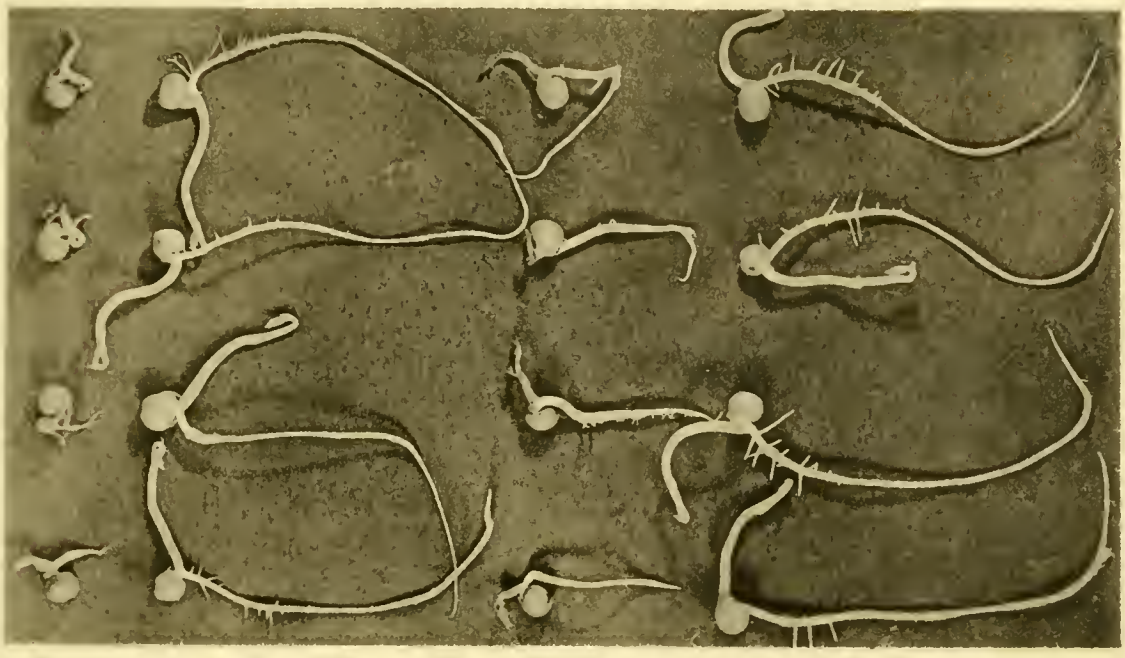
1. Reihe H_2O Licht
2. » Magdalarot 1 : 1000 »
3. » » 1 : 10.000 »
4. » » 1 : 100.000 »

Fig. IV. Von oben nach unten:

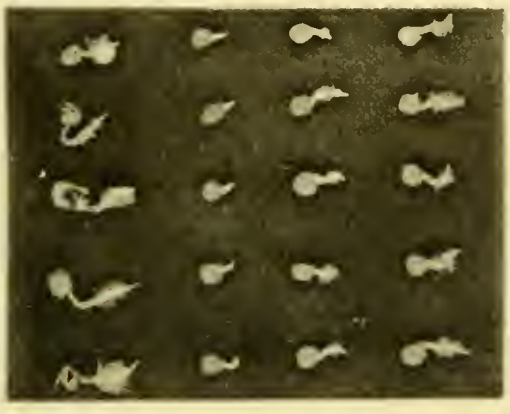
1. Reihe H_2O Dunkel
2. » Magdalarot 1 : 1000 Licht
3. » » 1 : 1000 Dunkel (hier die Samen mit den längsten Wurzeln genommen!)

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

II.

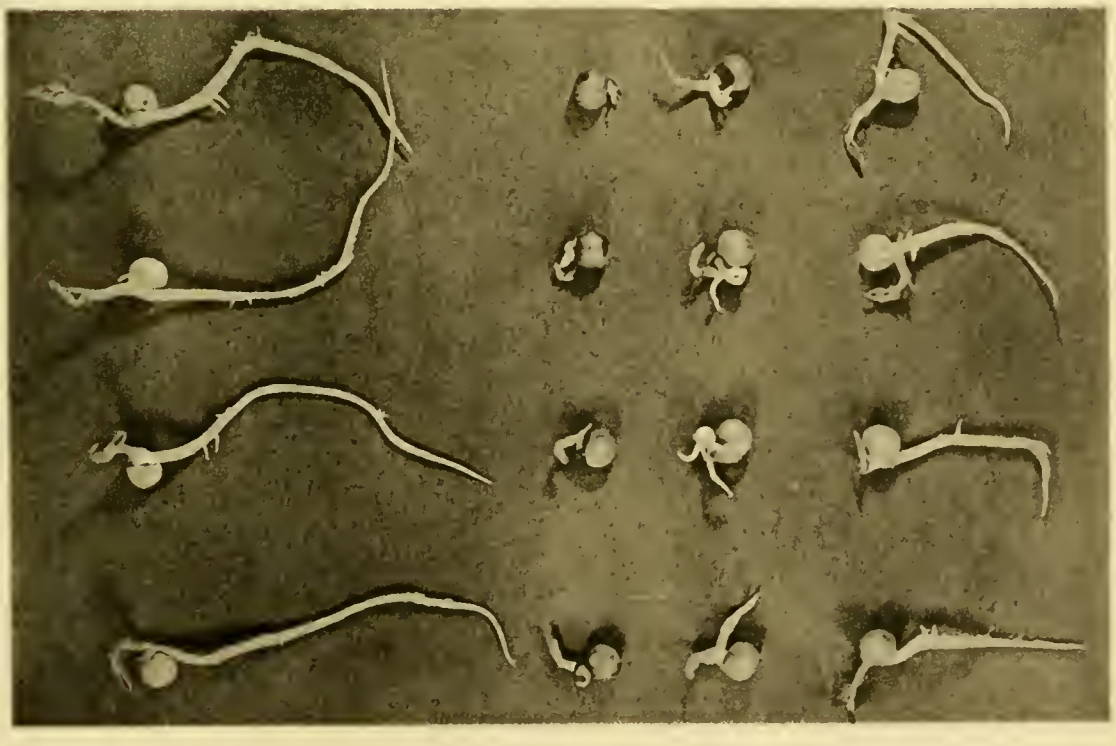


III.



IV.

I.



Lichtdruck v. Max Jaffé, Wien

Autor fecit.